



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MICELAR CRÍTICA DO ISOLADO PROTÉICO  
DE SORO DE LEITE E PRODUÇÃO DE EMULSÕES ÓLEO/ÁGUA PELO MÉTODO  
CONVENCIONAL E POR MEMBRANAS

Jessica Alberton

Florianópolis

2017

JESSICA ALBERTON

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MICELAR CRÍTICA DO ISOLADO PROTÉICO  
DE SORO DE LEITE E PRODUÇÃO DE EMULSÕES ÓLEO/ÁGUA PELO MÉTODO  
CONVENCIONAL E POR MEMBRANAS

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação  
em Engenharia de Alimentos, Departamento de  
Engenharia Química e de Alimentos do Centro  
de tecnologia da Universidade Federal de Santa  
Catarina como requisito para a obtenção do  
Título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

**Orientador:** Prof. Dr. Marco Di Luccio

**Co-Orientadora:** Dr<sup>a</sup>. Kátia Rezzadori e MSc.  
Tatiane Rêgo

Florianópolis, 2017

JESSICA ALBERTON

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MICELAR CRÍTICA DO ISOLADO PROTÉICO  
DE SORO DE LEITE E PRODUÇÃO DE EMULSÕES ÓLEO/ÁGUA PELO MÉTODO  
CONVENCIONAL E POR MEMBRANAS

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do  
Título de “Bacharel no Curso de Engenharia de Alimentos”, e aprovado em sua  
forma final pelo Programa de Graduação da Universidade Federal de Santa  
Catarina.

Florianópolis, 05 de Dezembro de 2017.

---

Prof. Marcelo Lanza, Dr. Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Marco di Luccio, Dr.  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Guilherme Zin, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Alessandra Cristina de Meneses, MsC  
Universidade Federal de Santa Catarina

## RESUMO

Para a obtenção de emulsões estáveis a escolha do surfactante bem como sua Concentração Micelar Crítica (CMC) são fatores primordiais. Neste trabalho, o valor de CMC encontrado para o isolado protéico de soro de leite bovino (WPI) utilizando-se o método da gota séssil foi de 0,008 g/L. Para fins de verificação da eficiência do método, foi determinada também a CMC do Tween 80, a qual foi de 0,016 g/L, coerente com demais valores encontrados na literatura. O WPI possui um grande potencial como surfactante, porém, não foram encontradas referências precisas na literatura sobre uma faixa de CMC para o mesmo. O vasto campo de aplicação de emulsões justifica a necessidade de pesquisas acerca do controle de sua estabilidade e o aprimoramento das técnicas de preparo, visto que não existem teorias que prevejam de maneira geral as características de diferentes formulações. Neste trabalho observou-se que emulsões produzidas por emulsificação com membranas apresentaram-se mais estáveis e com diâmetros de gota menores quando comparadas as produzidas por agitação convencional. As emulsões produzidas por membrana puderam ser analisadas ao longo de 21 dias, mantendo-se relativamente estáveis quanto à separação de fases e produção de odor, enquanto as emulsões produzidas por agitação convencional algumas vezes desestabilizaram logo após o preparo e não puderam ser analisadas por um período maior do que 7 dias. A avaliação estatística mostrou que a quantidade de WPI empregada como surfactante exerceu influência positiva no tamanho e distribuição de gota para emulsões produzidas por membrana, agindo como um bom surfactante, porém não exerceu influência sob as emulsões produzidas por agitação convencional, fazendo-se necessário um maior número de experimentos de forma a aumentar a confiabilidade dos dados obtidos. Por ser uma proteína, suas diferentes formas de obtenção e complexidade estrutural dificultam a obtenção de dados precisos para sua CMC, fazendo-se necessário estudos mais aprofundados acerca de seu comportamento em solução, bem como para seu uso como surfactante.

Palavras - Chave: WPI, membranas, emulsões, estabilidade, CMC, gota séssil

## ABSTRACT

In order to obtain stable emulsions, the choice of surfactant as well as its Critical Micellar Concentration (CMC) are primordial factors. In this work, the CMC value found for the whey protein isolate (WPI) using the sessile drop method was 0.008 g / L. In order to verify the efficiency of the method, the CMC of Tween 80 was also determined, which was 0.016 g / L, consistent with other values found in the literature. The WPI has a great potential as a surfactant, however, no precise references were found in the literature about a CMC range for it. The wide field of application of emulsions justifies the need for research on the control of its stability and the improvement of preparation techniques, since there are no theories that provide in general the characteristics of different formulations. In this work, it was observed that emulsions produced by emulsification with membranes were more stable and had smaller droplets when compared to those produced by conventional agitation. The membrane-produced emulsions could be analyzed over 21 days, remaining relatively stable for phase separation and odor production, while the emulsions produced by conventional agitation sometimes destabilized soon after the preparation and could not be analyzed by a longer than 7 days. The statistical evaluation showed that the amount of WPI used as surfactant had a positive influence on the size and distribution of droplet to membrane-produced emulsions, acting as a good surfactant, but did not influence the emulsions produced by conventional agitation, making it necessary to greater number of experiments in order to increase the reliability of the obtained data. Because it is a protein, its different forms of obtaining and structural complexity make it difficult to obtain accurate data for its

CMC, making it necessary to study in depth its behavior in solution as well as its use as a surfactant.

Key words: WPI, membranes, emulsions, stability, CMC, sessile drop .

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Emulsões simples água/óleo e óleo/água, respectivamente .....	4
Figura 2. Representação esquemática de uma molécula de surfactante .....	7
Figura 3. Estrutura química do monoleato de sorbitano (span® 80).....	9
Figura 4. Estrutura química do Tween® 80 .....	10
Figura 5. Escala de EHL .....	12
Figura 6. Conformação de micelas óleo/água e água/óleo.....	14
Figura 7. Ilustração de alguns tipos de molhabilidade. ....	15
Figura 8. Esquematização de uma gota pendente .....	17
Figura 9.- Representação do ângulo de contato formado entre a gota de um líquido sobre uma superfície sólida .....	17
Figura 10. Variação da tensão superficial versus concentração do surfactante .....	19
Figura 11. Esquema do processo de emulsificação com membrana.....	21
Figura 12. Diagrama contendo as etapas: de determinação da CMC dos surfactantes (a); produção e análise de emulsões por ultra-turrax e membrana (b) .....	22
Figura 13. Imagem captada pelo equipamento de uma gota de solução de WPI depositada sob superfície de mylar .....	25
Figura 14. Ilustração do aparelho goniômetro .....	25
Figura 15. Esquematização do aparato experimental para emulsificação por membrana.....	29
Figura 16. Ilustração do homogeneizador.....	30
Figura 17. Curva de CMC obtida com a variação da tensão de superficial em função da concentração de solução de Tween® 80.....	31
Figura 18. Variação da corrente elétrica $i$ (uA) versus concentração de Tween® 80 .....	32
Figura 19. Tensão superficial versus concentração de solução de WPI.....	33
Figura 20. Distribuição do tamanho das gotas para emulsões produzidas por emulsificação com membranas .....	35
Figura 21. Gráfico de Pareto indicando os efeitos dos parâmetros sobre o $D_{3/2}$ das emulsões produzidas por membrana analisadas logo após o preparo .....	36
Figura 22. Distribuição do tamanho das gotas para emulsões produzidas por emulsificação com agitação convencional .....	38
Figura 23. Gráfico de Pareto indicando os efeitos dos parâmetros sobre o $D_{3/2}$ das emulsões produzidas por agitação convencional analisadas logo após o preparo.....	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição proteica para isolado proteico de soro de leite (%).....	10
Tabela 2. Planejamento fatorial $2^3$ para produção de emulsões por ambos os métodos ..	27
Tabela 3. Condições fixas de operação para produção de emulsões por ambos os métodos.....	27
Tabela 4. Variação de $D_{3/2}$ das emulsões obtidas através de emulsificação por membrana em função das concentrações de surfactantes e de óleo analisadas logo após o preparo, ao decorrer dos dias. ....	34
Tabela 5. Variação de $D_{3/2}$ e de Span das emulsões produzidas por agitação convencional em função das concentrações de surfactantes e de óleo, analisadas logo após o preparo e após decorridos 7 dias .....	37



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

O/A – Óleo em água

A/O – Água em óleo

EM – Emulsificação com membranas

CMC – Concentração micelar crítica

EHL – Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico

WPI – *Whey Protein* isolado (Isolado protéico de soro de leite bovino)

D.P – Desvio padrão

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
1.1 OBJETIVOS	3
1.1.1 Objetivos Gerais	3
1.1.2 Objetivos Específicos	3
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	4
3.1 Emulsões: Aspectos gerais	4
3.1.1 Caracterização e estabilidade de emulsões	5
3.2 Surfactantes	7
3.2.1 Span® 80	9
3.2.2 Tween® 80	9
3.2.3 Concentrado e isolado proteico de soro de leite	10
3.3 Equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL)	11
3.4 Formações de micelas e concentração micelar crítica (CMC)	13
3.4.1 Determinação da CMC	14
3.4.2 Tensão superficial	15
4.2.1 Método da gota séssil para determinação da tensão superficial	17
3.5 PRODUÇÃO DE EMULSÕES	19
3.5.1 Métodos convencionais	19
3.4.2 Emulsificação com membranas	20
<b>4 - MATERIAIS E MÉTODOS</b>	22
4.1 DETERMINAÇÃO DA CMC DO TWEEN 80 E DO WPI	23
4.1.1 Preparo das soluções	23
4.1.2 Medidas de tensão superficial	24
4.1.3 Determinação da CMC	26
4.2 PRODUÇÃO E ANÁLISE DAS EMULSÕES	26
4.2.1 Preparo de soluções	26
4.2.2 Planejamento dos ensaios de emulsificação	26
4.2.3 Análise de diâmetro médio de gota e tratamento estatístico	27
4.2.4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	28
<b>5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	31
5.1 CMC para o Tween® 80	31
5.2 CMC para o WPI	33
5.3 Produção de emulsões por MEMBRANA	34

<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	39
6.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	40
<b>7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	41

## 1. INTRODUÇÃO

Emulsões em geral possuem um vasto ramo de aplicações, sendo as de maior interesse para a tecnologia de alimentos aquelas denominadas emulsões óleo em água (O/A), que se trata de gotas de óleo dispersas em uma fase aquosa contínua.

As emulsões alimentares podem ser vistas como uma maneira de tornar um alimento em particular mais palatável. Apesar de serem usualmente consideradas como produtos sintéticos obtidos através de processos da indústria, emulsões clássicas são sistemas naturais, contendo nutrientes como carboidratos, proteínas, vitaminas, minerais, gordura e água (LYNCH e GRIFFIN, 1974).

A primeira emulsão que o ser humano entra em contato ao longo da vida é provavelmente também a mais antiga, o leite. Mesmo com sua longa história, o estudo científico das emulsões é algo recente. A palavra “emulsão” tem sua origem em torno do século XVII, porém pesquisas científicas começaram apenas a pouco mais de um século, tanto que a classificação das emulsões em O/A e água/óleo (A/O) apareceu primeiramente nos artigos de Wolfgang Ostwald em 1910 (BECHER, 1991).

Com a evolução da ciência dos alimentos, descobriu-se que a emulsificação não só tornava alguns alimentos mais palatáveis, como também agia biologicamente como um sistema de transporte para se processar a gordura no corpo humano. Sais biliares presentes no fluido produzido pelo fígado fazem um papel fundamental ao emulsificar a gordura ingerida, tornando-a propensa à absorção.

O conhecimento permitiu ao homem não só desenvolver novos produtos a partir da emulsificação, como também aprimorar e apresentar alternativas. Dentre os exemplos que podem ser citados está a margarina, a primeira “substituta” da manteiga, assim como os molhos para salada, a maionese e emulsões de carne (linguiças) (LYNCH e GRIFFIN, 1974). Para se obter uma emulsão de qualidade e com bom custo-benefício alguns fatores devem ser considerados, como a seleção do emulsificante e o método de produção.

Emulsificantes, também denominados de surfactantes, são compostos anfifílicos, orgânicos ou organometálicos que desempenham um papel fundamental na formação e estabilização das emulsões. São responsáveis por diminuir a tensão interfacial entre as duas fases, formando micelas em solução a partir de uma determinada concentração micelar crítica (CMC), onde a micela é a configuração mais estável das moléculas de surfactante em solução. Em geral existem três tipos de surfactantes mais aplicados a

alimentos: proteínas, polissacarídeos substituídos e polióis derivados de ácidos graxos, sendo que as proteínas estão presentes em praticamente todos os coloides alimentares (DARLING e BIRKETT, 1987).

A CMC é uma propriedade intrínseca e característica de cada surfactante e sua determinação é de grande importância para o processo de emulsificação, uma vez que o efeito desses compostos é maior quando há uma quantidade significativa de micelas presente. Ela pode ser determinada através de mudanças bruscas no comportamento de algumas propriedades físicas, como a tensão superficial, condutividade elétrica, pressão osmótica, entre outras (SANTOS et al., 2007).

A escolha do equipamento para a produção é ditada pela aplicação que terá a emulsão resultante. A função básica do mesmo é quebrar a partícula ou dispersar a fase interna na fase externa, de forma que o tamanho da partícula resultante seja suficientemente pequena para prevenir a coalescência e a desestabilização. Os equipamentos empregados na indústria de alimentos são geralmente homogeneizadores de alta pressão envolvem alta demanda energética em um curto período de tempo, ou agitadores de pá, que demandam menos energia em um intervalo de tempo maior (DARLING e BIRKETT, 1987).

O desenvolvimento de novas tecnologias permitiu a introdução de métodos alternativos para a produção de emulsões, como o uso de membranas. A emulsificação por membranas é uma técnica relativamente nova a qual possui duas vantagens de destaque: baixa demanda energética, o que implica na redução de custos, e a possibilidade de formação de gotas de maneira controlada, onde o tamanho delas se relaciona diretamente com o tamanho dos poros da membrana, fato que permite ajustar as propriedades do produto apenas escolhendo a membrana adequada e alterando os parâmetros do processo (GIJSBERTSEN et al., 2004).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi determinar a CMC de um emulsificante utilizado na indústria de alimentos, o Tween 80, e de um emulsificante alternativo, o isolado proteico de soro de leite. Ainda, emulsões O/A utilizando os emulsificantes supracitados foram produzidas pelo método convencional e por membranas.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivos Gerais

Esse trabalho teve como objetivo determinar a CMC do WPI, produzir e analisar emulsões O/A por membranas e por método convencional.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

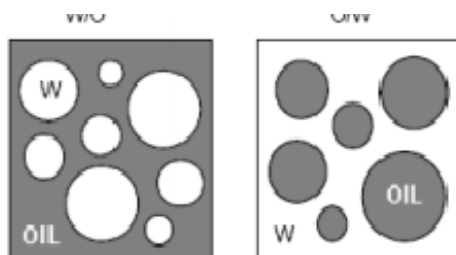
- Determinação a CMC do WPI por meio da variação da tensão superficial em função da concentração em solução aquosa pelo método da gota séssil. Determinação da CMC do Tween® 80 para verificação da confiabilidade do método.
- Produzir emulsões O/A através de emulsificação por membrana cerâmica e por método convencional de agitação (Ultra-TURRAX);
- Avaliar a influência de diferentes parâmetros (concentração de óleo e concentração dos surfactantes) na estabilidade da emulsão;
- Determinar o diâmetro médio de gota e a distribuição do tamanho de gota das emulsões produzidas;

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 - Emulsões: Aspectos gerais

Uma emulsão consiste em um sistema composto por dois líquidos imiscíveis ou parcialmente imiscíveis, compondo um sistema de duas fases as quais podem ser denominadas de fase dispersa e fase contínua, onde a fase dispersa é composta por pequenas gotículas que se distribuem no líquido que compõe a fase contínua. Quando um desses líquidos é a água e o outro é um líquido não miscível, existem duas formas de emulsões que podem ser produzidas, a emulsão (O/A) onde o óleo compõe a fase dispersa e vice-versa (A/O) (NAZIR, 2010), conforme ilustrado a seguir na Figura 1.

Figura 1: Emulsões simples A/O e O/A respectivamente.



Fonte: adaptado de Salager (2002).

Becher (1991) destaca as emulsões como um sistema heterogêneo contendo pelo menos um líquido imiscível disperso em outro na forma de gotas, cujo diâmetro em geral excede pouco mais de um micrometro. Tais sistemas são termodinamicamente instáveis e dependem de aditivos como os agentes surfactantes para estabilizá-los.

Na indústria de alimentos, as emulsões estão presentes de forma significativa. Um exemplo da complexidade dos mecanismos envolvidos na formação, estabilização e desestabilização de emulsões pode ser ilustrado pela produção de manteiga a partir do leite. O leite é uma dispersão natural de gordura em uma fase aquosa e as gotas dispersas são estabilizadas por uma membrana lipídico/protéica. Na produção da manteiga, a gordura é primeiramente concentrada através de um processo de *creaming*. O “creme” formado é posteriormente agitado com aeração, conduzindo as gotas de gordura aglomeradas até a

superfície das bolhas de ar que foram incorporadas. Conforme a mistura vai sendo manuseada, perde-se aos poucos o ar previamente incorporado e forma-se uma emulsão óleo/água onde a fase aquosa protéica é estabilizada por uma matriz de gordura parcialmente cristalizada (DARLING; BIRKETT, 1987).

As emulsões em sua maioria são definidas pela composição do óleo e da fase aquosa, pela ordem de adição dos componentes e pela origem dos agentes emulsificantes. Geralmente, são preparadas com surfactantes ou polímeros anfifílicos que diminuem a tensão interfacial ao serem absorvidos na interface óleo/água (ABISMAIL et al., 1999).

### 3.1.1 Caracterização e estabilidade de emulsões

Uma emulsão é considerada estável quando é capaz de manter suas gotas dispersas na fase contínua por um tempo considerável sem que ocorra a separação de fases. Lee (1999) as define como aquelas em que a água permanece dispersa por cinco dias ou mais. Para caracterizar uma emulsão faz-se necessário o conhecimento tanto de suas propriedades físico-químicas quanto do tamanho e distribuição das gotículas dispersas. As propriedades físico-químicas influenciam diretamente em suas características macroscópicas como cor, opacidade, reologia e estabilidade, enquanto a distribuição do tamanho das gotas (DTG) tem maior importância para o monitoramento e controle de processos industriais, devido a sua forte influência no incremento da viscosidade em tubulações, o que impacta diretamente em custos relacionados ao gasto energético (OLIVEIRA, 2010).

As gotas em uma emulsão raramente são de distribuição uniforme e são afetadas por fatores como temperatura, tensão interfacial, turbulência e cisalhamento no sistema (gerado por bombeamento, queda de pressão, etc.) (OLIVEIRA, 2010). A influência do tamanho das gotas na viscosidade de emulsões foi avaliada por Salager (1999) através da comparação de sistemas que possuíam o mesmo conteúdo de fase interna mas diferiam quanto ao tamanho das gotas. Assim o autor conclui que um sistema mais polidisperso contribui para a formação de uma emulsão menos viscosa, enquanto a presença de gotas menores contribui para o aumento de sua viscosidade. Para analisar uma emulsão de maneira geral são necessários dois parâmetros importantes: o diâmetro de gota da fase dispersa e sua concentração, sendo ambos relacionados com a viscosidade, estabilidade e coalescência (JILLAVENKATESA, 2001). O conhecimento do tamanho de gota e a



distribuição desse tamanho podem ser determinados de diversas maneiras com o uso de equipamentos comerciais disponíveis. Neste trabalho a determinação do tamanho e distribuição das gotas foi realizada por meio da técnica de difração a laser.

A difração a laser atua com a medição da variação angular na intensidade da luz difundida à medida que um feixe de laser interage com as gotículas dispersas da amostra. Gotas grandes dispersam a luz em pequenos ângulos em relação ao feixe de laser enquanto gotas pequenas dispersam a luz em ângulos grandes. Os dados sobre a intensidade da dispersão angular são então analisados para calcular o tamanho das partículas responsáveis por criar o padrão de dispersão, com base na teoria de difusão da luz de Mie. O tamanho das partículas é indicado como o diâmetro de uma esfera de volume equivalente (MALVERN PRODUCTS, 2017).

O valor da esfera equivalente é utilizado para quantificar o tamanho de gotas com formatos irregulares, onde, dependendo do que é avaliado (massa, volume, área de superfície, etc) o diâmetro dessa esfera pode apresentar valores diferentes (PAPINI, 2003). A definição mais utilizada para o diâmetro equivalente é dada pela Equação (1):

$$D_{p/q} = \frac{\sum_{i=1}^m n_i D_i^p}{\sum_{i=1}^m n_i D_i^q} \quad (1)$$

onde  $p$  e  $q$  são parâmetros utilizados dependendo do tipo de diâmetro equivalente necessário.

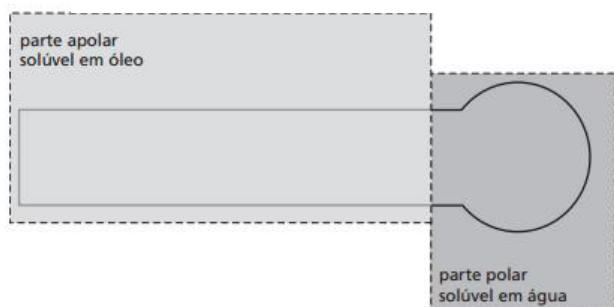
Neste trabalho, utilizou-se o diâmetro equivalente de Sauter ( $D_{3/2}$ ), dado pela Equação (2):

$$D_{3/2} = \frac{\sum n_i D_i^3}{\sum n_i D_i^2} \quad (2)$$

### 3.2 Surfactantes

Os surfactantes, também conhecidos como emulsificantes, são estruturas constituídas por uma porção hidrocarbônica (apolar) e uma porção iônica (polar). A parte composta por hidrocarbonetos, a qual pode ser linear ou ramificada, interage muito pouco com as moléculas de água, sendo por isso denominada de parte hidrofóbica, enquanto a porção iônica interage fortemente com a água via interações dipolo-dipolo ou íon-dipolo, constituindo a parte hidrofílica da molécula (OTTEWILL, 1984), conforme ilustrado na Figura 2:

Figura 2. Representação esquemática de uma molécula de surfactante



Fonte: DALTIM (2011).

Devido às suas estruturas e propriedades, os surfactantes, em presença de água e óleo, adsorvem-se nas interfaces se orientando de modo que o grupo polar fique voltado para a fase aquosa e o grupo apolar para a fase oleosa, formando um filme molecular ordenado nas interfaces, sendo que a estabilidade deste filme depende da natureza dos grupos hidrofílico e hidrofóbico da molécula (ATWOOD e FLORENCE, 1985).

Esse equilíbrio entre as partes hidrofílica e hidrofóbica da molécula é o que confere ao surfactante a propriedade de diminuir a tensão interfacial entre o óleo e a água, tendo papel fundamental para estabilizar uma emulsão, a qual também é influenciada pelo tipo de surfactante empregado.

Essa estrutura pode ser encontrada em proteínas, as quais são consideradas bons surfactantes naturais. Porém, uma das dificuldades de seu uso está no fato de que a maioria das proteínas apresenta uma redução ou perda da atividade emulsificante em regiões de pH próximo ao ponto isoelétrico, onde a carga líquida e a solubilidade apresentam-se reduzidas. Outros fatores que prejudicam a capacidade emulsificante das proteínas são a

presença de sais e exposição ao aquecimento (ELIAS et al., 2006). Proteínas de soro de leite como o WPI são polímeros naturais de grande interesse pelas suas boas propriedades emulsificantes e que apresentam um grande potencial de uso na indústria de alimentos (GIRARD et al., 2002).

A classificação geral de surfactantes é feita com base na natureza da parte polar de sua molécula, a qual pode ser aniônica, catiônica, não-iônica ou zwitteriônica.

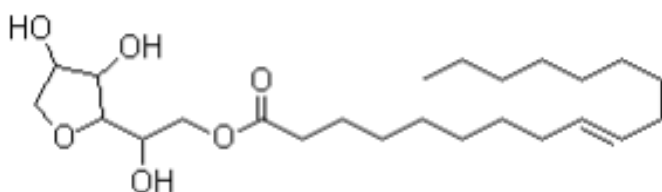
- Surfactantes aniônicos: Apresentam cargas elétricas na parte hidrofílica, ao se dissociarem em água, formando íons carregados negativamente. Os mais conhecidos são os alquil alcanoatos (ou sabões), derivados de gorduras animais ou óleos vegetais, por reações de saponificação, mas também pode ser de obtidos de forma sintética, como o dodecil sulfato de sódio (SDS) ou através de processos naturais, como a hidrólise de triglicerídeos. (OTTEWILL, 1984)
- Surfactantes catiônicos: Ao se dissociarem em água formam íons carregados positivamente. Nessa classificação se destacam os sais de amônio quaternários, os quais são solúveis tanto em meio ácido como em meio alcalino, proporcionando aumento da viscosidade. Devido a este fato, geralmente possuem boas propriedades germicidas, como o brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB) e o brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB). (OTTEWILL, 1984)
- Surfactantes Zwitteriônicos: Em condições normais possuem tanto carga aniônica quanto catiônica e apresentam-se nessa forma no seu ponto isoeletrico, tendo baixa solubilidade e poder molhante. Neste grupo encaixam-se importantes compostos naturais, como os triglicerídeos. Uma propriedade única desses compostos é sua capacidade de adsorver fortemente em várias interfaces, como ar-água, óleo-água e água-sólido e baixar sua energia interfacial superficial (OTTEWILL, 1984)
- Surfactantes não iônicos: Não fornecem íons em solução aquosa e a sua solubilidade em água ocorre devido a presença de grupamentos funcionais com forte afinidade pela água em suas moléculas. Muitos destes compostos são baseados em polioxietileno, e um típico exemplo é o monoéter de dodecilhexaoxietileno glicol, abreviado como C12E6 para denotar uma cadeia hidrocarbônica e uma cadeia de

óxido etileno (OTTEWILL, 1984). Nessa classificação se enquadram alguns dos surfactantes utilizados neste trabalho como o Span® 80 (monoleato de sorbitano) e Tween® 80 (monooleato de polioxietileno sorbitano) que serão abordados mais detalhadamente.

### 3.2.1 - Span® 80

Chamado de monoleato de sorbitano é um líquido oleoso, amarelo, solúvel em óleos e gorduras, sua estrutura pode ser observada na Figura 3. Os spans são surfactantes oriundos da desidratação do sorbitol e esterificados com um ácido graxo como o oleico, láurico ou palmítico, tendo maior aplicação em emulsões A/O (PRISTA e MORGADO, 1979).

Figura 3. Estrutura química do monoleato de sorbitano (span® 80).



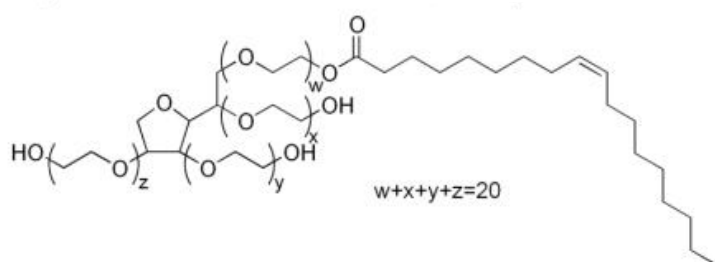
Fonte: MERCK (2012a)

### 3.2.2 Tween® 80

Os tweens, também conhecidos como polissorbatos, são derivados de spans. O Tween® 80 é denominado de monooleato de polioxietileno sorbitano e sua designação numérica “80” faz referência ao seu grupo lipofílico, o ácido oleico e sua estrutura pode ser observada a seguir na Figura 4. Trata-se de um líquido oleoso e de cor amarelada, solúvel em água e em óleos minerais e vegetais, agindo como bom emulsificante para emulsões O/A (PRISTA e MORGADO, 1979). Sua baixa massa molecular permite uma adsorção rápida na interface do sistema, formando uma camada protetora estabilizando a emulsão.

É um tensoativo amplamente utilizado em alimentos, principalmente em sorvetes (GOFF, 1997).

Figura 4. Estrutura química do Tween® 80



Fonte: MERCK (2012 b)

### 3.2.3 Concentrado e isolado proteico de soro de leite

Concentrado proteico de soro de leite e isolados proteicos de soro de leite são universalmente definidos como as proteínas globulares que permanecem no soro do leite após a coagulação das caseínas a pH 4.6 e a 20°C. O termo “isolado” refere-se a uma concentração proteica > 90 % (EIGEL et al., 1984). São obtidos principalmente como subproduto da fabricação de queijos.

A tabela 2 abaixo apresenta maiores detalhes sobre a composição protéica de concentrado proteico de soro de leite (WPC) e isolado proteico de soro de leite (WPI) disponíveis comercialmente.

Tabela 1. Composição proteica para concentrado e isolado proteico de soro de leite (%).

	WPC		WPI	
	Faixa	Média± D.P	Faixa	Média± D.P
<b>Imunoglobulinas</b>	3,8-15.4	7,2±4.4	5,9-7.5	6,9±0.7
<b>Albumina soro bovino</b>	5,8-19.6	8,6±4.2	7,2-10.9	8,6±1.3
<b>β- Lactoglobulina</b>	40,4-76.9	67,3±10.6	67,6-74.8	70,2±3.3
<b>α- Lactoglobulina</b>	14,5-24.8	17,5±3	8,3-17.5	14,3± 4.3

As propriedades superficiais conferidas pela sua constituição protéica de  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactalbumina e albumina de soro bovino auxiliam a evitar a coalescência de emulsões, sendo assim de grande utilidade para aplicações em emulsificação óleo-água e/ou formação de estruturas espumosas em produtos alimentares. A tendência das moléculas de proteína de se separarem entre as fases, aquosa e não aquosa de um sistema, mantendo sua adsorção na interface e diminuindo a tensão superficial configura sua ação surfactante.

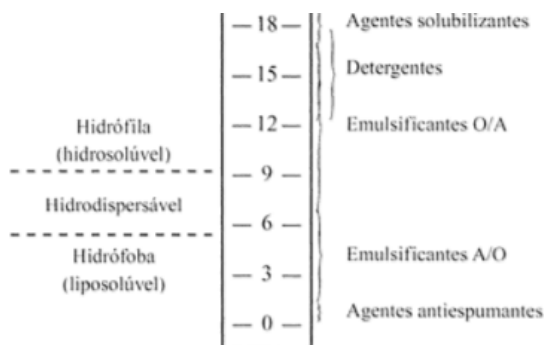
Esse produto possui um bom apelo comercial por ser de origem natural e possuir boas propriedades nutricionais, porém, seu uso como agente surfactante é ainda complexo. Tal complexidade se dá pela influência de inúmeras propriedades físico-químicas que afetam sua funcionalidade, como a quantidade e distribuição de resíduos sulfídricos, hidrofílicos e hidrofóbicos, bem como a conformação que as proteínas adquirem uma vez que são adsorvidas no sistema. Como tais características dependem tanto da composição intrínseca da matéria-prima como das condições de processamento, purificação e armazenamento, torna-se difícil a padronização e comparação de dados de pesquisas científicas acerca de seu comportamento (MARSCHALL, 1998).

### 3.3 Equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL)

O sistema EHL foi apresentado em 1949 por William Griffin e publicado posteriormente pelo Journal of the Society of Cosmetic Chemistry. Em seu artigo, tensoativos foram definidos como moléculas que combinam grupos hidrofílico e lipofílico. A medida das contribuições relativas destes dois grupos é chamado de EHL e recebe um valor numérico. O EHL proposto por Griffin é usado principalmente na classificação de tensoativos não iônicos (PASQUALI; TAUROZZI; BREGNI, 2008).

O valor de EHL de um surfactante é calculado de acordo com uma fórmula empírica, sendo que, para os tensoativos não iônicos, os valores variam de 0 a 20 seguindo uma escala arbitrária apresentada em seguida na Figura 5. Na parte superior da escala os surfactantes são hidrófilos e atuam como agentes solubilizantes, detergentes e emulsificantes O/A. Emulsificantes lipossolúveis com um baixo EHL agem como emulsificantes A/O (ATWOOD e FLORENCE, 2003).

Figura 5. Escala de EHL.



Fonte: ATWOOD e FLORENCE (2003)

O valor do EHL é então determinado através de cálculos referentes à estrutura molecular dos surfactante. Os polissorbitatos (*tweens*) possuem valores de EHL compreendidos entre 9,6 e 16,7, já os ésteres sorbitanos (*spans*) compreendem valores mais baixos, entre 1,8 e 8,6. Algumas fórmulas foram propostas para encontrar este índice, conforme exemplificado nas Equações 3 e 4 abaixo:

$$EHL = 20 \left( 1 - \frac{S}{A} \right) \quad (3)$$

Onde:

S= índice de saponificação do éster

A= índice de acidez do ácido graxo

A Equação 4 indica o cálculo de EHL de ésteres de ácidos graxos e de álcoois graxos polihidricos

$$EHL = \frac{(E+P)}{5} \quad (4)$$

Onde:

E= Porcentagem em peso de cadeias de oxietileno

P= Porcentagem em peso de radicais de álcoois polihidricos (glicerol ou sorbitol) na molécula.

A Equação 4 é a indicada para substâncias cujo índice de saponificação é impossível de ser obtido, como ceras de abelha e derivados de lanolina (ATWOOD e FLORENCE, 2011).

Um problema que ocorre na determinação do EHL é o fato de que os surfactantes comerciais não são completamente puros, por isso podem ocorrer variações entre o EHL encontrado através das equações e o índice real. Além disso, podem ocorrer interferências nas propriedades do surfactante causadas pela presença de outras substâncias (ARAUJO, 2004; PASQUALI; TAUROZZI; BREGNI, 2008, GRIFFIN, 1949).

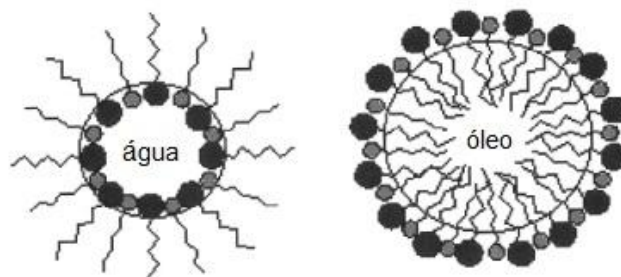
### 3.4 Formações de micelas e concentração micelar crítica (CMC)

As micelas são agregados coloidais termodinamicamente estáveis que se formam de maneira espontânea por surfactantes a partir de uma determinada concentração. Micelas formadas em soluções aquosas têm a cabeça dos surfactantes localizadas em sua superfície, mantendo o contato com o solvente da solução, e sua parte interna é composta pelas caudas dos surfactantes. Esse tipo de micela é conhecido como micela de fase normal ou micela óleo-em-água. Micelas inversas apresentam as cabeças dos surfactantes localizadas no interior do agregado enquanto as caudas se estendem para fora desse, sendo essas micelas conhecidas também como micelas água em-óleo, ambas são ilustradas na Figura 6.

Elas podem assumir diferentes formatos e tamanhos, sendo isso uma função das características dos surfactantes utilizados e das condições do meio em que esses se encontram. Um mesmo surfactante pode formar diferentes geometrias de micelas. Em concentrações próximas da concentração micelar crítica, há a formação de micelas esféricas e globulares menores e, em concentrações mais elevadas, há a formação de estruturas mais complexas, como micelas esferocilíndricas, elipsoidais e vesiculares (SANTOS, 2014).



Figura 6: Conformação de micelas óleo/água e água/óleo



Fonte: Adaptado de OLIVEIRA et al, 2004.

A concentração em que se inicia a formação dos agregados micelares é denominada concentração micelar crítica (CMC). A presença das micelas no sistema gera uma mudança brusca em suas propriedades físicas e químicas. Sendo assim, o valor da concentração de surfactante adicionado que marca esse momento de transição nas propriedades do sistema tem uma grande importância ao se definir a quantidade a ser aplicada de surfactante, dependendo da ação esperada. Dessa forma, utiliza-se a quantidade apropriada de surfactante para o efeito desejado, evitando possíveis desperdícios. Em geral, a determinação experimental da CMC é feita por adições sucessivas de surfactante na solução, monitorando-se de forma simultânea as propriedades físico-químicas típicas do meio (SANTOS, 2014).

#### 3.4.1 Determinação da CMC

Determinar a CMC é de importância fundamental para quaisquer processos envolvendo surfactantes, pois o efeito desses compostos é maior quando uma quantidade significativa de micelas encontra-se presente. (SANTOS, 2014) A concentração em que ocorre a CMC em uma dada temperatura é característica de cada surfactante e é influenciada basicamente pela natureza do tensoativo, pela temperatura e pela força iônica.

Geralmente a CMC pode ser determinada através de gráficos baseados na mudança de propriedades físico-químicas em função da concentração da solução de surfactante. Tais propriedades físico-químicas podem ser: tensão superficial, pressão osmótica, condutividade, intensidade de fluorescência e índice de refração. Neste trabalho, a propriedade escolhida para uso na determinação da CMC dos surfactantes foi a tensão

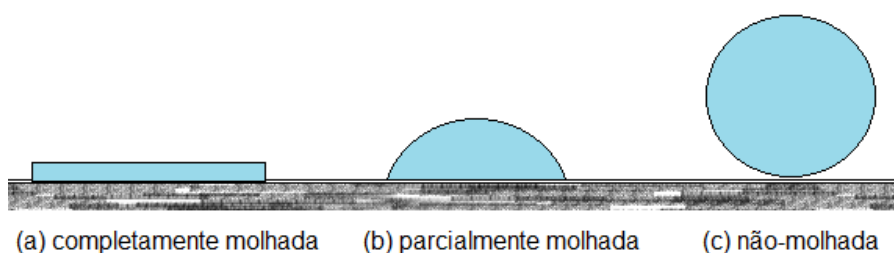
superficial, a qual variou-se com diferentes concentrações de solução de surfactante (SANTOS, 2014).

### 3.4.2 Tensão superficial

A tensão superficial pode ser definida como a força de atração entre as moléculas que constituem um líquido. Na ausência de outras forças, a mesma faz com que o líquido adquira a configuração de uma gota esférica. Grandes tensões superficiais resultam de grandes forças atrativas, e, quando isso ocorre, o líquido tende a formar pequenas gotas sobre uma superfície sólida, ao invés de molhá-la de maneira uniforme. Dessa maneira, líquidos com pequenas tensões superficiais formam filmes sobre superfícies sólidas.

Quando uma gota de um líquido deposita-se em uma superfície sólida, tem-se a possibilidade de formação de três tipos de superfícies, sendo elas: completamente molhada, parcialmente molhada e não molhada, ilustradas a seguir na Figura 7. A primeira ocorre quando há espalhamento total do líquido sobre a superfície, formando um ângulo igual ou menor a  $30^\circ$ . Quando o ângulo formado se encontra entre  $30^\circ$  e  $89^\circ$  a superfície é tratada como parcialmente molhada, e para ângulos superiores a  $90^\circ$  superfície é caracterizada como não molhada, ou hidrofóbica (ATWOOD; FLORENCE, 1985).

Figura 1: Ilustração de alguns tipos de molhabilidade.



Fonte: Adaptado de ATWOOD e FLORENCE (1985).

Existem diversos métodos para se obter a tensão superficial de um sistema. O método da gota pendente é um dos mais comuns, sendo amplamente utilizado no estudo da tensão superficial ou interfacial de soluções.

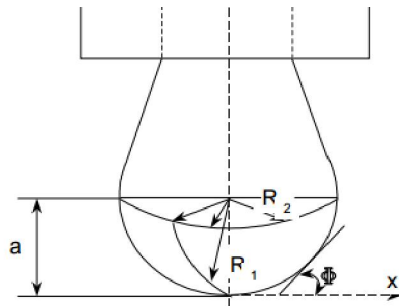
Ele baseia-se na determinação do perfil de uma gota pendente no ar em equilíbrio mecânico (no caso da determinação da tensão superficial) ou da determinação do perfil de uma gota de um líquido mais denso dentro de outro menos denso em equilíbrio mecânico (MORITA et.al, 2000). O perfil da gota, quando está em equilíbrio mecânico, é determinado por um balanço entre a força de gravidade e as forças de superfície (Figura 8) e pode ser descrito pela equação diferencial de Bashforth e Adams (Equação 6) (inverter as equações pra ficar na ordem) abaixo, que relaciona os parâmetros geométricos de uma gota pendente onde uma das incógnitas é o fator de forma B que relaciona o raio de ápice da gota com a densidade e a tensão superficial.

$$2 - B \frac{z}{a} = \frac{1}{\frac{R_1}{a}} + \frac{\text{sen}\theta}{\frac{x}{a}} \quad (6)$$

$$\text{com } D_{3,2} = \frac{\sum n_i D_i^3}{\sum n_i D_i^2} \quad (7)$$

onde:  $\Delta\rho$  é a densidade do líquido para a qual a tensão superficial é medida,  $g$  é a aceleração da gravidade,  $\gamma$  é a tensão superficial,  $a$  é o raio de curvatura no ápice da gota,  $(x, z \text{ e } \theta)$  são coordenadas definidas e  $R_1$  é o raio de curvatura de coordenadas  $(x, z)$ . A tensão superficial é então obtida através da comparação do perfil da gota experimental sobre equilíbrio mecânico e do perfil teórico da gota (gerado pela resolução numérica da equação de Bashforth) que mais se aproxima ao resultado experimental.

Figura 8. Esquematização de uma gota pendente



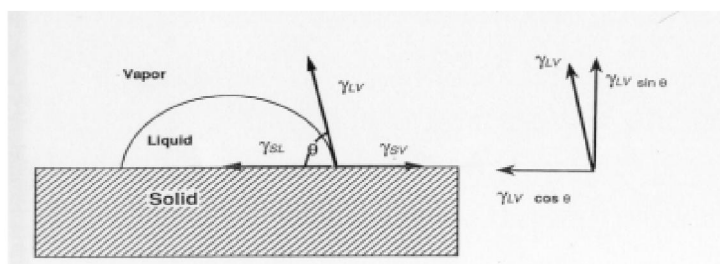
Fonte: (MORITA et al., 2000)

#### 4.2.1 Método da gota sésil para determinação da tensão superficial

Outra forma de se obter a tensão superficial é sendo calculada por meio do ângulo contato  $\theta$  formado entre uma gota do líquido depositada sobre uma superfície sólida conhecida, tal método, que foi empregado neste trabalho, é conhecido como método da gota sésil.

O ângulo é específico para cada sistema e depende das interações entre as interfaces vapor/líquido, vapor/sólido e sólido/líquido (MYERS, 1990). Na Figura 9 tem-se um exemplo do sistema formado.

Figura 9. Representação do ângulo de contato formado entre a gota de um líquido sobre uma superfície sólida



Fonte: CHAN, (1994)

O ângulo de contato  $\theta$  é formado entre o plano da tangente à superfície do líquido e o plano tangente à superfície do sólido. A tensão superficial é simbolizada por  $\gamma$  e é definida como a força que age de forma tangencial sobre a gota do líquido em contato com a superfície. A tensão superficial pode estar presente nas interfaces sólido/vapor ( $\gamma_{sv}$ ), sólido-líquido ( $\gamma_{sl}$ ) e líquido-vapor ( $\gamma_{lv}$ ). O equilíbrio entre as três fases pode ser representado pela equação de Young:

$$\gamma_{lv} \cos \theta = \gamma_{sv} - \gamma_{sl} \quad (8)$$

O trabalho ( $W$ ) necessário para separar as duas fases mantidas em contato de uma forma reversível é chamado de trabalho ideal de adesão e é dado pela equação de Dupré:

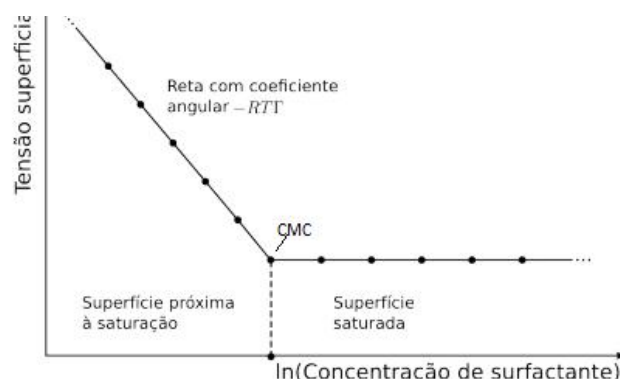
$$W_{sl} = \gamma_{sv} + \gamma_{lv} - \gamma_{sl} \quad (9)$$

Combinando as equações (8) e (9) tem-se a equação de Young-Dupré, que correlaciona o ângulo de contato  $\theta$ , a tensão superficial do líquido  $\gamma_l$  e a energia superficial livre  $\gamma_s$ .

$$W_{sl} = \gamma_{sv} (1 + \cos \theta) \quad (10)$$

No caso de um surfactante, a adsorção nas interfaces de um sistema pode ser considerada como a característica fundamental. A plotagem da variação da tensão superficial *versus* a concentração do surfactante permite através da análise do ponto de descontinuidade formado, determinar a CMC do mesmo (Figura 10). O ponto onde a tensão para de variar conforme o aumento da concentração está relacionado com a CMC, pois como as micelas são menos tensoativas do que as moléculas de surfactantes separados, a tensão superficial permanece constante acima deste determinado valor.

Figura 10. Variação da tensão superficial versus concentração do surfactante



Fonte: Adaptado de MARTINEZ (2012)

### 3.5 PRODUÇÃO DE EMULSÕES

#### 3.5.1 Métodos convencionais

Emulsões podem ser preparadas através de três métodos principais: emulsificação por inversão de fase, emulsificação física por ruptura da gota e emulsificação “espontânea”. Na emulsificação por inversão de fase e na espontânea, a estabilidade da emulsão relaciona-se diretamente com a temperatura, com a natureza química dos aditivos e com as razões entre as duas fases, já o método de ruptura da gota, um dos mais utilizados, é dependente da natureza mecânica do processo e da reologia dos componentes (MYERS, 1999)

O método de ruptura de gota é realizado com agitadores mecânicos, podendo ser de agitação simples (com pás) ou com equipamentos do tipo rotor-estator, que operam através do bombeamento das fases da emulsão por uma abertura entre um cilindro perfurado e as lâminas de um agitador rotatório (PARTICLE SCIENCES, 2009).

Os métodos convencionais usados em escala industrial para produção de emulsões, em geral, demandam alto consumo de energia para gerar uma forte tensão de ruptura, o que muitas vezes resulta em emulsões polidispersas, sendo difícil o controle do tamanho das gotas, como nos moinhos coloidais e homogeneizadores de alta pressão (NAZIR, 2010).

O moinho coloidal, por exemplo, é outro equipamento muito utilizado comercialmente. Essa operação tem como princípio a passagem da solução entre uma superfície estacionária e outra rotativa, separadas por um espaço ajustável. Ao passar por essa superfície a solução é submetida a cortes por turbulência, se dispersando na fase interna. É um processo que gera alta dissipação de calor (LISSANT, 1963).

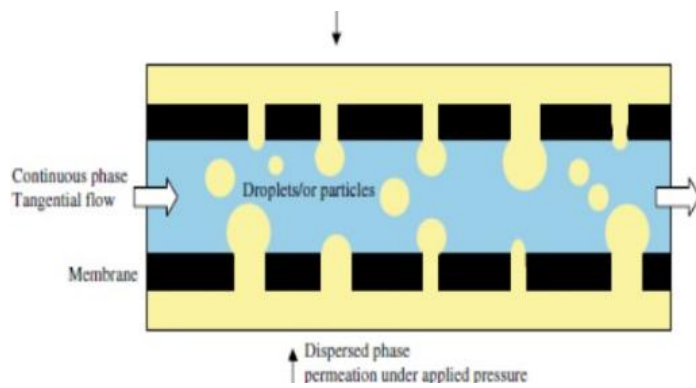
### 3.4.2 Emulsificação com membranas

A emulsificação com membrana é um método relativamente novo, simples e de baixa demanda energética e que possibilita a produção de gotas de maneira controlada. O tamanho das gotas se relaciona diretamente com o tamanho dos poros da membrana, com isso, as propriedades do produto podem ser ajustadas conforme a escolha da membrana, adaptando-se os parâmetros do processo (GIJSBERTSEN, 2004). Nesse método, a fase dispersa é pressionada através dos poros de uma membrana para a fase contínua, a qual flui ao longo da superfície da membrana formando gotículas, conforme ilustrado na Figura 11.

Além do tamanho e distribuição dos poros, a polaridade da membrana é outra propriedade importante que deve ser considerada para este processo. No caso de emulsões O/A, por exemplo, devem ser utilizadas membranas hidrófilas, pois minimizam a adesão da fase dispersa à superfície da membrana, garantindo a sua passagem até o extremo do poro, facilitando a formação da gota (JOSCELYNE, 2000).

Na emulsificação com escoamento cruzado (*“cross-flow”*), para formar a emulsão, força-se a fase dispersa através de uma membrana na fase contínua. O tamanho da gota pode ser controlado pela escolha da membrana, pela velocidade e pressão transmembrana. Dessa maneira, as gotas produzidas podem variar seu tamanho médio entre um fator 2 e 10 vezes maior do que o diâmetro dos poros da membrana (JOSCELYNE, 2000).

Figura 11: Esquema do processo de emulsificação com membrana.



Fonte: CHARCOSSET (2008).



#### 4 MATERIAIS E MÉTODOS

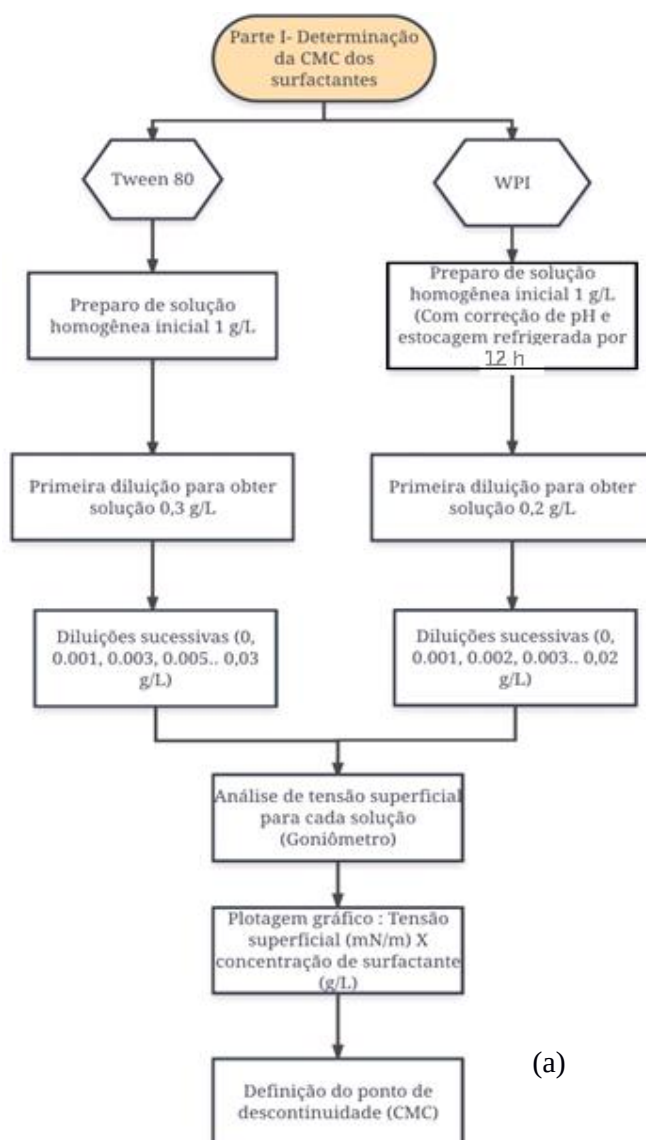
A execução deste trabalho foi dividida em duas partes:

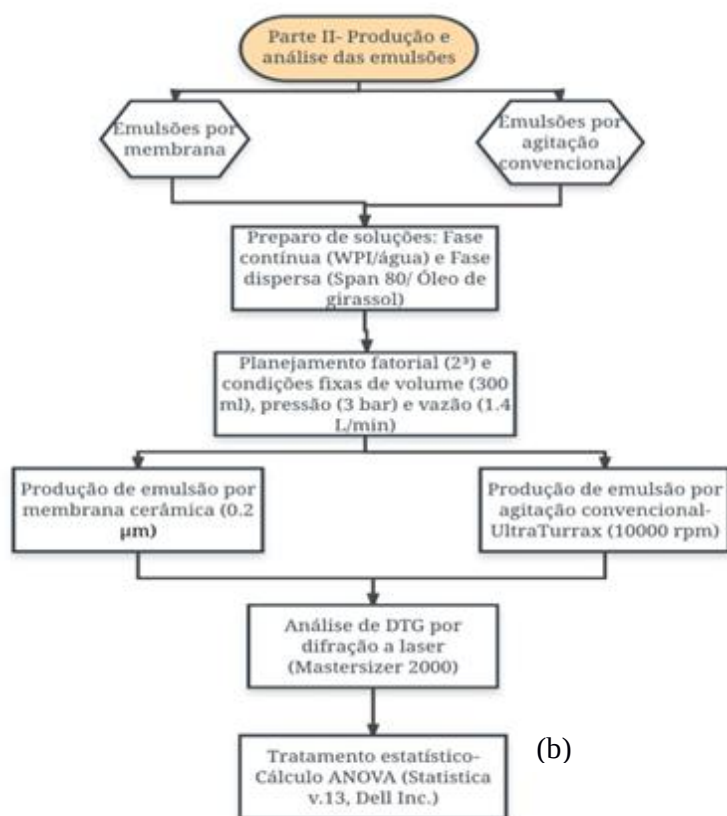
Parte I - Determinação da CMC dos surfactantes

Parte II- Produção e análise de emulsões pelos dois métodos.

A Figura 12 apresenta os diagramas contendo as etapas de cada procedimento, as quais serão detalhadas a seguir.

Figura 12. Diagrama contendo as etapas: de determinação da CMC dos surfactantes (a); produção e análise de emulsões por ultra-turrax e membrana (b)





#### 4.1 DETERMINAÇÃO DA CMC DO TWEEN 80 E DO WPI

##### 4.1.1 Preparo das soluções

As soluções foram preparadas no laboratório de separação por membranas (LABSEM) do departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da UFSC, em Florianópolis, no mês de setembro de 2017.

- Para o Tween® 80:

Uma solução padrão com concentração 1 % (m/m) foi preparada utilizando-se Tween® 80 (Sigma Aldrich) e água ultrapura (Milli-Q). A solução foi mantida em agitação branda com agitador magnético por cerca de 20 minutos para fins de homogeneização. A solução foi diluída para obtenção de outra 0,3 % (m/m) e, partir desta, fizeram-se as diluições posteriores que compuseram a faixa de concentração para a obtenção da curva. Foram analisados 14 pontos abrangendo a faixa de 0 a 0,03 g/L.

- Para o WPI:

Uma solução padrão 1 % (m/m) foi preparada utilizando-se WPI (Farmácia Vita Essência Ltda.) e água ultrapura (Milli-Q). A solução foi mantida em agitação branda em um agitador magnético por cerca de 30 minutos para fins de homogeneização, o pH foi ajustado com uma solução de NaOH 0,1 M para manter-se próximo de 7. Reservou-se em geladeira por 12 horas para estabilização da solução.

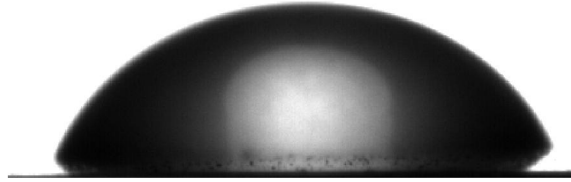
Uma segunda solução 0,2 % (m/m) foi preparada utilizando-se a anterior e, a partir desta, foram feitas as diluições que compuseram a faixa de concentração analisada para obtenção da curva. Foram analisados 16 pontos abrangendo uma faixa de 0 a 0,02 g/L.

#### 4.1.2 - Medidas de tensão superficial

As medidas de tensão superficial foram realizadas utilizando o equipamento Goniômetro (Ramé-Hart with DROPimage standard, modelo 200-00), ilustrado na Figura 14. O equipamento está disponível na central de análises do mesmo departamento. A tensão superficial foi determinada pelo método da gota séssil, realizando-se as medidas em triplicata a temperatura constante de 23°C .

Neste equipamento, uma micro seringa é utilizada para depositar uma gota (cerca de 10 µL) de solução sob uma superfície sólida de material com composição conhecida, neste caso, utilizou-se uma superfície de Mylar. A imagem da gota (Figura 13) é captada por uma câmera de vídeo e digitalizada, registrando a forma da gota e calculando o ângulo de contato formado entre o líquido e uma linha de referência localizada entre a interface gota/superfície, através de um sistema de análise de imagem incluído no equipamento, um exemplo da imagem formada pode ser observado na Figura 10. Para cada gota depositada se realizam 10 medidas com um intervalo de 1 segundo entre elas para garantir que atinja-se o estado de equilíbrio. Por sua vez, para cada amostra foram medidas no mínimo 5 gotas, para obter-se a média dos resultados e verificar o desvio padrão.

Figura 13: Imagem captada pelo equipamento de uma gota de solução de WPI depositada sob superfície de mylar.

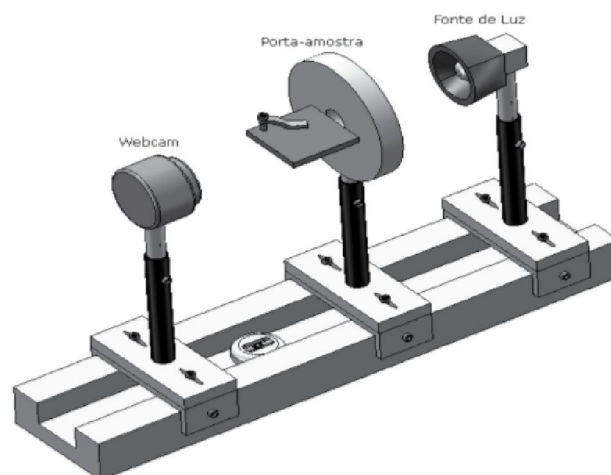


Fonte: O autor

A tensão superficial da solução ( $\gamma_s$ ) é calculada através da Equação 12 que correlaciona este valor com o ângulo de contato ( $\theta$ ) e a energia livre superficial, onde  $\beta = 0,0001247 \text{ m}^2$ . O programa utiliza um processo iterativo para resolver a equação e obter  $\gamma_s$

$$\cos\theta + 1 = 2 \sqrt{\frac{\gamma_s}{\gamma_l}} e^{-\beta(\gamma_l - \gamma_s)^2} \quad (12)$$

Figura 14: Ilustração do aparelho goniômetro



Fonte: SOARES et al., (2011).

#### 4.1.3 Determinação da CMC

A concentração micelar crítica foi então determinada com o uso do gráfico gerado pela variação da tensão superficial dos sistemas em função da concentração das soluções. O ponto de descontinuidade, o qual representa a CMC, é tomado como a intersecção de duas retas traçadas seguindo-se o comportamento da curva.

### 4.2 PRODUÇÃO E ANÁLISE DAS EMULSÕES

#### 4.2.1 Preparo de soluções

O preparo de todas as soluções bem como os ensaios de emulsificação foram realizados a temperatura ambiente (23 – 25°C) no Laboratório de Separação com Membranas (LABSEM) do departamento de engenharia Química e Alimentos (EQA/UFSC).

Para a fase dispersa: óleo de girassol (Sinhá) adquirido em um mercado local com viscosidade de  $55,62 \pm 1,69$  mPa.s e densidade de  $910 \text{ kg.m}^{-3}$ , Span® 80 com viscosidade 1000-2000 mPa.s (20°C) e massa molar (MM)  $428.36 \text{ g.mol}^{-1}$  adquirido da Sigma-Aldrich. Em um béquer de 50 ml, pesou-se com balança analítica a quantidade de span® 80 respectiva para cada ensaio e completava-se o volume com o óleo de girassol. A solução era agitada por cerca de 10 minutos em agitador magnético para fins de homogeneização.

Para a fase contínua: WPI (isolado proteico de soro de leite) e água ultrapura (MilliQ). Em um béquer de 500 ml pesava-se a quantidade de WPI respectiva para cada ensaio, completando-se o volume com água ultrapura. A solução era mantida em agitação por cerca de 90 minutos. Ao final da homogeneização, o pH da solução, levemente ácido, era medido com o auxílio de um pHmetro e ajustado com solução de NaOH 2 M para que estabilizasse em torno de 7,0, a solução então era acondicionada em frasco âmbar e armazenado em geladeira por 12 h para posterior uso.

#### 4.2.2 Planejamento dos ensaios de emulsificação

Os ensaios de emulsificação foram organizados por meio de um planejamento fatorial. O planejamento fatorial permite a análise simultânea do efeito de cada fator e de suas interações, como também a identificação dos fatores significativos para a resposta

desejada, analisando níveis de cada fator. Assim, para identificação dos efeitos de cada componente na estabilidade das emulsões produzidas pelos dois métodos, foi executado um planejamento com três fatores em dois níveis ( $2^3$ ) em que os parâmetros avaliados foram as quantidades (%) de WPI, Span® 80 e de óleo de girassol conforme apresentado na tabela 2. A tabela 3 apresenta as condições fixas de processo, definida com base no trabalho de Zanatta et al., (2014).

Tabela 2. Planejamento fatorial  $2^3$  para produção de emulsões por ambos os métodos.

%	Nível (-1)	Ponto central (0)	Nível (+1)
<b>Óleo</b>	5	12,5	20
<b>WPI</b>	6,5	10,75	15
<b>Span® 80</b>	1	2	3

O Span® 80 foi utilizado como surfactante auxiliar empregado na fase dispersa (óleo).

Tabela 3. Condições fixas de operação para produção de emulsões por ambos os métodos.

<b>Volume (mL)</b>	300
<b>Vazão (L/min)</b>	1,4
<b>Pressão (bar)</b>	3

#### 4.2.3 Análise de diâmetro médio de gota e tratamento estatístico

Os diâmetros equivalentes das gotículas foram determinados pela técnica de difração a laser utilizando o equipamento *Multi-Angle Static Light-Scattering Mastersizer* (Malvern Instruments, UK) disponibilizado pelo Laboratório de Farmacotécnica e Cosmetologia LFC-UFSC.

O diâmetro equivalente das gotículas foi caracterizado em termos de diâmetro médio de Sauter  $D_{32}$ , obtido pela Equação 13 (MORALES, 2009).

$$D = \frac{\sum_i n_i d_i^3}{\sum_i n_i d_i^2} \quad (13)$$

Sendo  $n_i$  é o número de gotículas de diâmetro  $d_i$ .

Esse diâmetro é basicamente uma média do tamanho das gotículas e é definido como o diâmetro de uma esfera a qual possui o mesmo volume/relação de área de superfície do que uma gotícula de interesse.

Os dados de distribuição de tamanho são usados para calcular o coeficiente de variação (*Span*), conforme a Equação 14. Medindo-se assim a largura de distribuição. O intervalo será menor quanto mais estreita for a distribuição (JOSCELYNE, 2000).

$$Span = \frac{d_{90} - d_{10}}{d_{50}} \quad (14)$$

Sendo  $d_{10}$ ,  $d_{50}$  e  $d_{90}$  os diâmetros máximos que correspondem a 10%, 50% e 90% do volume total de gotas da emulsão.

Para as emulsões por membrana, as análises foram realizadas logo após o preparo das emulsões e após decorridos 21 dias. As emulsões produzidas por agitação convencional foram analisadas logo após o preparo e depois de decorridos 7 dias, uma vez que ocorria a separação de fases.

Os resultados dos ensaios foram submetidos ao teste estatístico ANOVA (Análise de variância) a 90% de significância utilizando o programa *Statistica* (Trial version 13, 64-bit, Dell Inc).

#### 4.2.4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

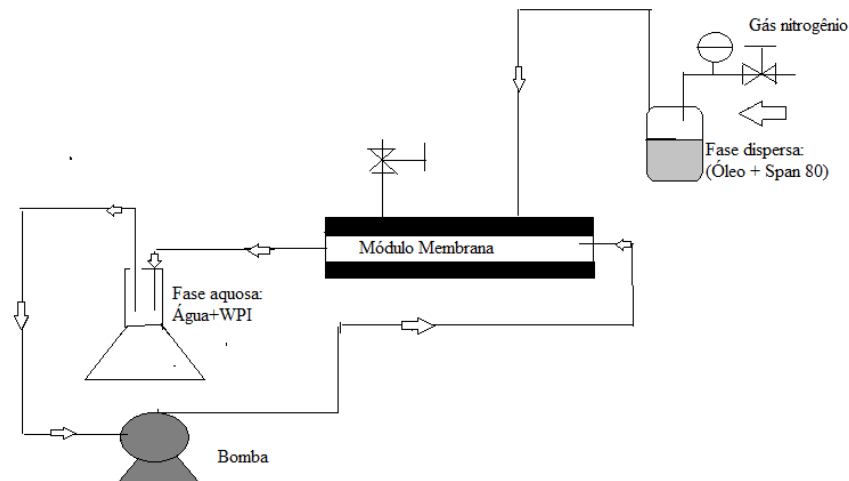
##### 4.2.4.1 Emulsões por membrana

O experimento foi realizado com base no trabalho de Zanatta (2014). Uma ilustração do sistema utilizado para realizar as emulsões pode ser visualizada na Figura 15.

A fase contínua foi mantida em um erlenmeyer de 500 mL enquanto foi continuamente bombeada pelo interior da membrana utilizando uma bomba de engrenagem (Micropump Inc, USA), a uma vazão de escoamento de  $1,4 \pm 0,2 \text{ L.min}^{-1}$ . A fase dispersa foi mantida em um tanque de aço inox de aproximadamente 300 mL pressurizado com nitrogênio gasoso (3 bar). Foi usado uma membrana composta de material cerâmico, monocal hidrofílica, de  $0,2 \mu\text{m}$  preparada à base de alumina (Pall do Brasil Ltda.) com comprimento

de 250 mm, área filtrante útil de aproximadamente 50 cm<sup>2</sup> e diâmetros interno e externo de 10 mm e 8 mm respectivamente.

Figura 15. Esquematização do aparato experimental para emulsificação por membrana



Fonte: Adaptado de ZANATTA (2014).

#### 4.2.4.2 – Emulsões por método convencional

Nessa etapa utilizou-se o homogeneizador Ultra-Turrax® T 25 digital (IKA®) (Figura 16) para produção de emulsões convencionais e posterior comparação com as emulsões produzidas com membranas.

Esse procedimento consistiu-se em pesar a solução de fase contínua em um béquer de 500 mL e em seguida submetê-la a agitação com o homogeneizador. A velocidade é elevada gradualmente até atingir 14000 rpm. Ao atingir essa velocidade a fase oleosa é então vertida lentamente no sistema e, após adição de todo conteúdo, é acionou-se o cronômetro para contabilizar o tempo total de mistura de 2 minutos.



Figura 2. Ilustração do homogeneizador



Fonte: (IKA T 25 digital Ultra-Turrax User Manual , acesso em 2017.)

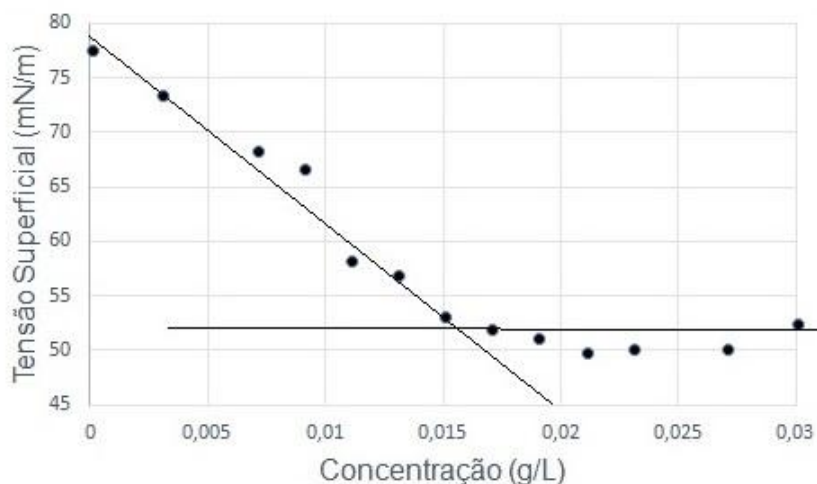
## 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 - CMC para o Tween® 80

A CMC do o Tween® 80 foi determinada com o objetivo de verificar a confiabilidade do método. Por ser um surfactante amplamente utilizado e estudado, diversos trabalhos propuseram-se a determinar sua CMC de formas variadas, fornecendo uma boa base de dados para sua faixa de concentração e, portanto, tornando-o um bom surfactante para avaliação do método utilizado.

A curva que representa a variação da tensão superficial em função da concentração de solução para o Tween 80 obtida neste trabalho pode ser observada na Figura 17. O ponto de intersecção entre as duas retas traçadas indica o momento em que a variação de tensão superficial passa a ser pouco significativa frente ao aumento da concentração de surfactante, sendo essa, portanto, a concentração micelar crítica. Para esse experimento encontrou-se o resultado de 0.016 g/L, valor este próximo aos fornecidos pela SigmaAldrich (Produt Information, TWEEN® 80 Sigma Ultra Number P 5188 ).

Figura 17: Curva de CMC obtida com a variação da tensão de superficial em função da concentração de solução de Tween 80



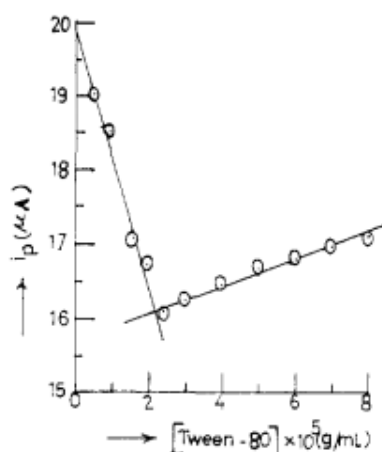
Por ser um surfactante estável e de ampla aplicação, nas últimas décadas diversos trabalhos se propuseram a determinar sua CMC utilizando diferentes métodos, sendo os

de tensiometria, fluorimetria e espectrofotometria os mais frequentemente empregados (HAIT; MOULICK, 2001).

Segundo Mandal et al., (1988) se propôs a utilizar uma técnica diferente, empregando a voltametria cíclica para determinação de CMC de diferentes surfactantes em solução aquosa, com o objetivo de avaliar sua eficiência frente a métodos tradicionais de

Figura 3. Variação da corrente elétrica  $i$  ( $\mu A$ ) versus concentração de Tween 80.

espectrofotometria. A propriedade variada em função da concentração neste caso foi a corrente elétrica ( $\mu A$ ) da solução, onde gerou-se um gráfico de comportamento similar ao deste trabalho (Figura 18) e obteve-se o valor de 0.022 g/L para a CMC do tween® 80.



Fonte: MANDAL et al. (1988)

Em um trabalho mais recente publicado por Mahmood e Dhafer (2013), avaliou-se o efeito da temperatura na determinação da CMC de alguns surfactantes não-iônicos por fluorimetria. A propriedade avaliada em função da concentração nesse caso foi a intensidade de fluorescência ( $I_{max}$ ), onde encontrou-se para o valor de CMC de 0.019 g/L para o tween® 80 a temperatura ambiente (25°C).

Resultados semelhantes também foram obtidos por outros métodos tensiométricos. Wan e Lee (1974) encontraram o valor de 0.014 g/L para a CMC do tween® 80 utilizando o anel de Du Nouy. Já no trabalho de Patist et al., (2000), obteve-se um resultado mais próximo ao de Mandal et al., (1988) (0.023 g/L) ao utilizar a placa de Wilhelmy.

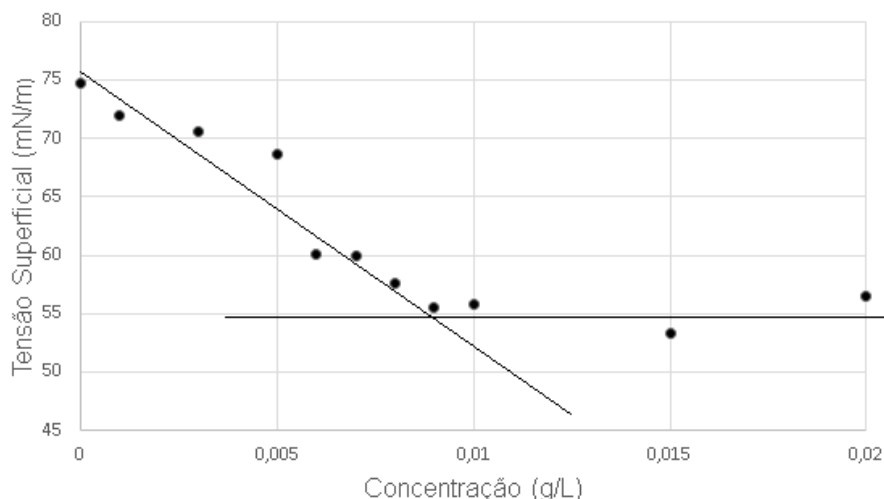
As limitações inerentes a cada método, variações de temperatura e o grau de pureza dos surfactantes são fatores que podem justificar a discrepância de resultados. Quando se trata da variação de tensão superficial, Patist et al., (2000) reforça que este método baseia-

se no fato da concentração de surfactante livre permanecer quase inalterada após a micelização, mesmo quando sua concentração total é aumentada. Porém, devido à presença de impurezas, a superfície pode tornar-se saturada com moléculas altamente ativas, tornando assim a tensão superficial invariável com a concentração mesmo se estiver abaixo da CMC.

## 5.2 - CMC para o WPI

A curva que representa a variação da tensão superficial em função da concentração de solução de WPI obtida neste trabalho pode ser observada na Figura 19. Para esse caso, o ponto de intersecção não se encontra bem definido devido à dificuldade de se obter valores em uma faixa constante após o período de decaimento da tensão superficial.

Figura 19. Tensão superficial versus concentração de solução de WPI



Segundo o gráfico obtido, o ponto de intersecção para a definição da CMC encontra-se aproximadamente em uma concentração de 0,008 g/L, aproximadamente metade do valor encontrado para o Tween®80 e bem abaixo das concentrações de demais surfactantes conhecidos como o Tween®40 (0,027 g/L) e Tween®20 (0,08 g/L) (Sigma Aldrich® Product Information, 2011) porém, com a falta de um segmento mais constante, esse resultado torna-se questionável. Também não foram encontrados dados suficientes na literatura para uma comparação metodológica mais efetiva. Um único resultado semelhante foi encontrado na qualificação de Rêgo (2017), a qual propôs-se a determinar

a CMC do WPI por tensiometria pelo método da placa de Wilhelmy, encontrando um valor de 0,0075 g/L.

O isolado proteico de soro de leite ao contrário dos *tweens* não possui uma estrutura química propriamente definida. Apesar de sua composição proteica ser conhecida, diferentes condições que abrangem desde a criação do animal do qual é obtido o leite até forma de produção e purificação final do produto podem modificar sua estrutura bem como suas características físico-químicas e propriedades funcionais. Por esse motivo, apesar de possuir um grande potencial como agente surfactante, determinar um valor padrão para suas propriedades (como a CMC) torna-se um trabalho complexo, fazendo-se necessário estudos mais aprofundados.

Um dos principais problemas no estudo dos isolados proteicos também está na falta de uma padronização para análises de suas propriedades funcionais, resultando em informações literárias incompletas e/ou contraditórias (MORR e HA, 2009).

### 5.3 - Produção de emulsões por MEMBRANA

A Tabela 4 apresenta o tamanho médio de gota das emulsões produzidas por emulsificação com membrana para cada condição experimental, analisadas logo após o preparo e após decorridos 21 dias. Observou-se que para a maioria dos ensaios, ocorreu um aumento do tamanho de partícula ao decorrer do tempo, indicando uma maior desestabilização do sistema, ou seja, separação de fases.

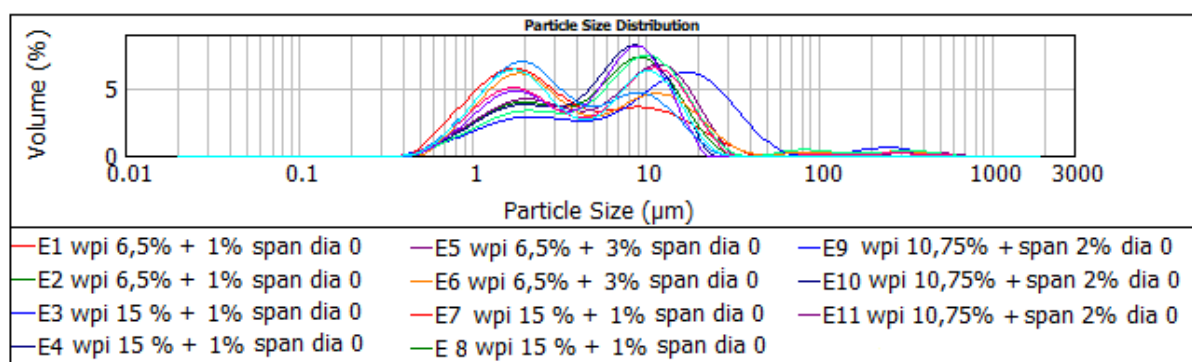
Tabela 4. Variação de  $D_{3/2}(\mu\text{m})$  das emulsões obtidas através de emulsificação por membrana em função das concentrações de surfactantes e de óleo analisadas logo após o preparo, ao decorrer dos dias.

ENSAIOS	ÓLEO	WPI	SPAN® 80	Span <sub>0</sub>	D <sub>3/2 0</sub>	Span <sub>21</sub>	D <sub>3/2 21</sub>
1	+1	+1	+1	5,017	2,116	16,789	6,099
2	+1	+1	-1	2,347	3,227	2,568	4,051
3	+1	-1	+1	2,966	4,098	5,632	4,117
4	+1	-1	-1	2,07	3,201	2,382	3,364
5	-1	+1	+1	2,655	3,123	4,409	4,365
6	-1	+1	-1	4,856	2,658	2,77	3,099
7	-1	-1	+1	2,403	3,631	2,391	3,652

8	-1	-1	-1	2,16	2,883	2,698	2,784
9	0	0	0	3,021	2,73	3,408	2,797
10	0	0	0	3,809	2,315	3,303	2,393
11	0	0	0	3,738	2,467	3,848	2,326

A Figura 20 mostra a distribuição do tamanho das gotas das emulsões por membrana quando analisadas logo após o preparo, observa-se que para a maioria dos ensaios obteve-se um comportamento de distribuição bimodal, com diâmetros de gota em sua maioria variando aproximadamente entre 1 e 10  $\mu\text{m}$ .

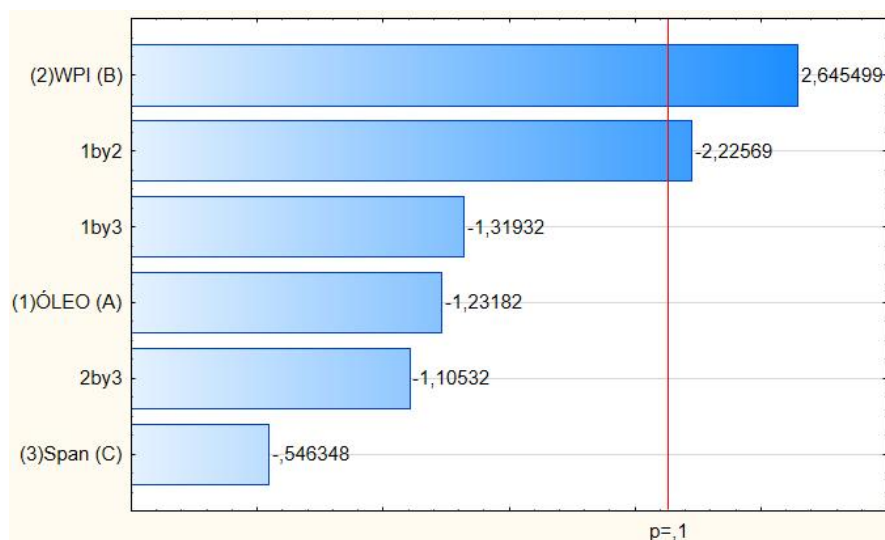
Figura 20. Distribuição do tamanho das gotas para emulsões produzidas por emulsificação com membranas.



Os dados da Tabela 4 foram analisados estatisticamente pelo método de análise de variância-ANOVA considerando 90% de significância. O resultado das análises sobre os diâmetros podem ser visualizado na forma gráfico de Pareto apresentado na Figura 21. Os efeitos mostram o quanto cada fator influenciou na resposta avaliada, portanto quanto maior seu valor, maior é a influência.

O comportamento tende a uma melhor emulsão com aumento na quantidade de WPI, porém faz-se necessário a execução de um maior número de ensaios para aumentar a confiabilidade destes resultados. O desempenho do WPI é inferior quando comparado a outros emulsificantes mais frequentemente utilizados como oTween® 20, abordado no trabalho de Zanatta et al., (2014). Entretanto, o WPI apresenta-se como uma alternativa em potencial como emulsificante para emulsões O/A devido a seu alto conteúdo proteico composto majoritariamente de  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactalbumina e albumina de soro bovino, os quais contribuem para evitar a coalescência de emulsões.

Figura 21: Gráfico de Pareto indicando os efeitos dos parâmetros sobre o  $D_{3/2}$  das emulsões produzidas por membrana analisadas logo após o preparo



#### 5.4 Produção de emulsões pelo MÉTODO CONVENCIONAL

A Tabela 5 mostra o diâmetro médio das gotículas das emulsões produzidas por agitação convencional para cada condição experimental, analisadas logo após o preparo e depois de decorridos 7 dias. Nesse caso observa-se que os diâmetros bem como os valores de dispersão (*span*) obtidos foram em grande parte maiores quando comparado aos resultados obtidos por membrana.

Tabela 5. Variação de  $D_{3/2}$  e de Span das emulsões produzidas por agitação convencional em função das concentrações de surfactantes e de óleo, analisadas logo após o preparo e após decorridos 7 dias ( $D_{3/2}$  apresentado em  $\mu\text{m}$ ).

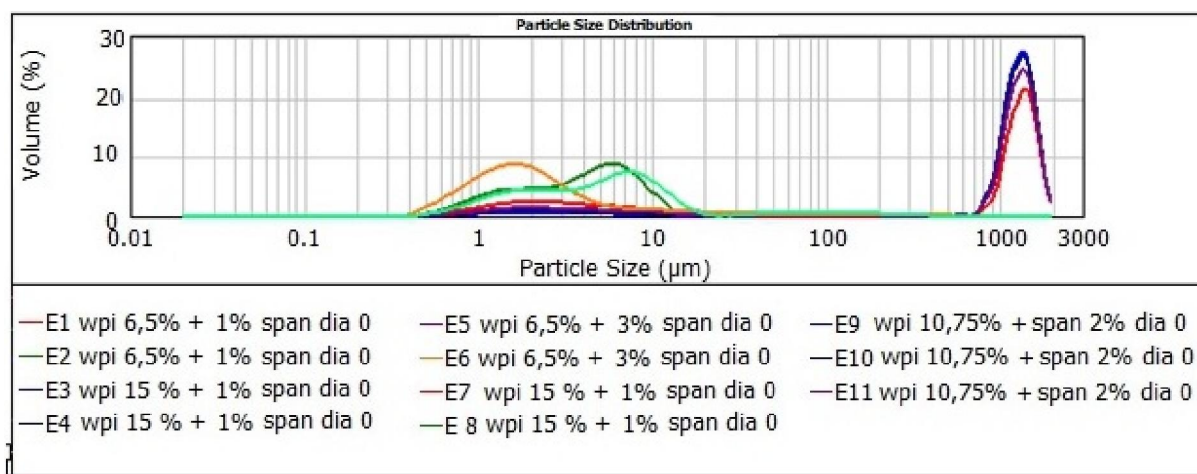
ENSAIOS	ÓLEO	WPI	SPAN 80	Span 0	$D_{3/2}$ 0	Span 7	$D_{3/2}$ 7
1	+1	+1	+1	12,717	4,669	26,663	2,571
2	+1	+1	-1	11,708	4,085	3,306	3,387
3	+1	-1	+1	71,303	4,174	14,981	2,563
4	+1	-1	-1	11,249	3,490	197,550	4,015
5	-1	+1	+1	114,67	2,394	1,378	5,051
6	-1	+1	-1	20,629	3,139	56,445	4,213
7	-1	-1	+1	3,942	1,560	102,32	1,969
8	-1	-1	-1	0,581	29,209	78,364	2,535
9	0	0	0	0,672	21,699	268,31	3,198
10	0	0	0	1,303	12,268	23,267	4,097
11	0	0	0	1,357	6,527	7,058	4,698

As emulsões produzidas por agitação desestabilizavam-se as vezes logo após o preparo, ocasionando a separação de fases que dificulta a análise de distribuição de partículas. Tal fato pode ser evidenciado na tabela 5 observando-se a baixa reprodutibilidade dos dados, principalmente referente aos pontos centrais (9, 10 e 11) os quais apresentaram grande dispersão tanto no dia 0 quanto após 7 dias. Ainda, após 7 dias de armazenamento, a análise tornava-se inviável devido ao mal cheiro produzido pelas amostras, outro indicativo de forte desestabilização e degradação protéica.

A Figura 22 mostra a distribuição do tamanho das gotas das emulsões produzidas por agitação convencional quando analisadas logo após o preparo. Novamente observa-se novamente uma tendência ao comportamento multimodal, porém, com diâmetros de gota maiores, alcançando valores próximos de 1000  $\mu\text{m}$ .



Figura 22. Distribuição do tamanho das gotas para emulsões produzidas por emulsificação com agitação convencional

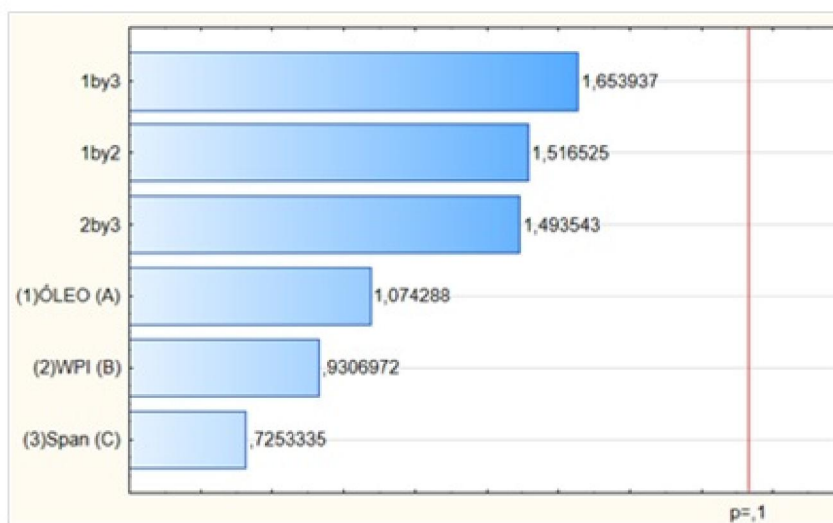


O tamanho médio das gotas bem como sua distribuição fornecem um indicativo de possíveis mecanismos de desestabilização das emulsões, portanto podem ser considerados parâmetros importantes de determinação. Para uma emulsão mais estável o ideal seria obter um comportamento monomodal de distribuição com gotas de tamanho médio.

Gotas grandes tendem a sofrer flotação/sedimentação, enquanto gotas muito pequenas tornam o sistema instável devido a elevada área de contato, ou seja, um sistema de alta energia, aumentando a probabilidade de haver coalescência (MCCLEMENTS, 2007).

Os dados das tabelas 5 foram analisados estatisticamente através de análise de variância ANOVA considerando 90% de significância. O resultado da análise sobre o  $D_{3,2}$  pode ser observado pelo gráfico de Pareto da Figura 23. Observa-se que a quantidade de WPI possui novamente influência positiva, porém não de forma significativa. Ainda, nesse método, nenhum dos parâmetros analisados apresentou influência significativa no tamanho médio de gota das emulsões. Dessa forma, é necessário se avaliar as faixas de concentrações estudadas e realizar novo planejamento experimental para testar novas faixas a fim de verificar a influência destes parâmetros.

Figura 23: Gráfico de Pareto indicando os efeitos dos parâmetros sobre o  $D_{3/2}$  das emulsões produzidas por agitação convencional analisadas logo após o preparo



## 6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos com os métodos de emulsificação empregados evidenciam o grande potencial da emulsificação por membranas para a obtenção de sistemas relativamente mais estáveis quando comparados aos resultados obtidos com agitação convencional. O acompanhamento das emulsões produzidas por membrana pôde ser realizado por mais de 20 dias, enquanto que as produzidas por agitação se desestabilizavam muitas vezes logo após o preparo e sua análise se tornava inviável quando decorridos 7 dias, com uma grande separação de fases e surgimento de odor forte.

Para determinação da CMC, o método da gota séssil, apesar das dificuldades inerentes a esse método, apresentou resultados satisfatórios quando aplicado para o Tween 80, obtendo-se um valor condizente com demais encontrados na literatura. Sendo, portanto, uma alternativa ao método da gota pendente para determinação da CMC de surfactantes comerciais.

Já para o WPI, a dificuldade de determinação deu-se principalmente devido a carência de dados na literatura sobre suas propriedades, justificando a complexidade de seu uso como agente surfactante e a necessidade de estudos mais aprofundados sobre suas características e aplicabilidade.

## 6.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Determinar a CMC dos surfactantes pela técnica de fluorimetria para comparação dos resultados e realização de novos ensaios de emulsificação aumentando as quantidades dos parâmetros avaliados.

## 7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABISMAIL, B.; CANSELIER, J.P.; WILHELM, A.M.; DELMAS, H.; GOURDON, C. **Emulsification by ultrasound: drop size distribution and stability.**, p.75-83, 1999.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática.** 3 ed. p.478. Viçosa, 2004.

ATWOOD, D.; FLORENCE, A.T. **Princípios Físico-Químicos em Farmácia.** Vol 4. 2003.

ATWOOD, D; FLORENCE, A. T. **Surfactants Systems: Their Chemistry Pharmacy and Biology.** London. 1985.

BECHER, P. **Food Emulsions, an introduction.** Cap 1. p. 1-6. ACS Symposium Series, Vol. 448, 1991.

CHAN, C. M. **Polymer surface modification and charaterization.** New York: Hanser, p.57. 1994.

CHARCOSSET, C.; LIMAYEM, I.; FESSI, H. **The membrane emulsification process-A review.** Journal Chem Tech Biotech, 2004.

DALTIN, D. **Tensoativos- Química,Propriedades e Aplicações.** Editora Bluncher. São Paulo, 2011.

DARLING, D. F; BIRKETT, R.J. **Food Emulsions And Foams,** Cap.1, 1987.

ELIAS, O. F.; CAPITANI, C D.; MOLINA, S.; ANON, M. C.; PACHECO, M.T.B. **Propriedades Emulsificantes de Complexos de Proteínas de Soro de Leite com Polissacarídeos.** São Paulo, 2006.

EISING, R. **Estudo físico-químico de uma mistura de biosurfactantes e sua associação com poli(oxietileno)**. Florianópolis, 2009.

EIGEL, W.N.; BUTTLER, J.E.; ERNSTROM, C.A.; FARRELL, H.M.; HARWALKAR V.R.; JENNESS, R.; WHITNEY, R. **Nomenclature of Proteins of Cow's Milk: Fifth Revision**. **Journal of Dairy Science**, 1984.

GIRARD, M.; TURGEON, S.L.; PAQUIN, P. **Emulsifying properties of whey protein-carboxymethylcellulose complexes**. **Journal of Food Science**, V.67, p. 113-119, 2002.

GOFF, H.D. **Partial coalescence and structure formation in dairy emulsions**. **Food Proteins and Lipids**, American Chemical Society, 1997.

GIJSBERTSEN, A. J.; PADT, A. VAN DER.; BOOM, R.M. **Status of crossflow membrane emulsification and outlook for industrial application**, **Journal Membrane Science**, 2004.

JILLAVENKATESA, A.; DAPKUNAS, S. J.; LIN-SIEN, H. L. **"Particle Size Characterization"**. National Institute of Standards and Technology. Special Publication 960-1. pgs. 93–120, 2001.

JOSCELYNE, S. M.; TRAGARDH, G. **Membrane emulsification - A literature review**. **Journal Membrane Science**, 2000.

LEE, C.D.; MYOUNG, W.N. **Synthesis and Characterization of PS-clay nanocomposite by emulsion polymerization**. South Korea, 1999.

LISSANT, K.J. **A Unified Method of Delineating Polymeric Species**. Missouri, 1963.

LYNCH, M. J; GRIFFIN, W. C. **Emulsions and Emulsions Technology part I**, Cap.5, 1974.

MANDAL, A.B.; NAIR, B.U.; RAMASWAMY. D. **Determination of the Critical Micelle Concentration of Surfactants and the Partition Coefficient of an Electrochemical Probe by Using Cyclic Voltametry**. India, 1988.

MAHMOOD, E. M.; DHAFER, A. F A. K .**Effect of Temperature Changes on Critical Micelle Concentration for Tween Series Surfactant**. Kufa University, 2013.

MARSCHALL, R. D. **Nutritional and Functional Characteristics of Whey Proteins in Food Products**. Wageningen, Netherlands, 1998.

MARTINEZ, L. **Introdução à tensão superficial**. Instituto de Química, Campinas-SP, 2012.

MCCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: principles, practice and techniques**. Washington, 2007.

MERCK. **822187 Tween® 80**. Germany, 2012b. (Informação do produto)

MERCK. **840123 Span® 80**. Germany, 2012a. (Informação do produto)

MORALES, R. A. **“Fluid shear effects of centrifugal pump on oil-water flow”**. Tese de Mestrado. University of Tulsa. 2009.

MORITA, A.T.; ZAMBERLAN, R.D.T.; SHIMIZU, R.N.; PALMEZAN, E.; DEMARQUETTE, N.R. **Avaliação do método da gota pendente para determinação da Tensão Superficial de líquidos de baixos pesos moleculares e polímeros fundidos**. São Paulo, 2000.

MORR, C.V.; HA, E. Y .**Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties** Department of Food Science and Technology, Ohio State University, Columbus, OH, 2009.

MYERS, D. **Surface, interfaces and colloids**. New York: VCH Publishers, cap.17, 1990.

NAZIR, K. SCHOREN; BOOM, R. **Premix emulsification: A review**. Journal of Membrane Science, 2010.

OGAWA, S.; DECKE, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. **Production and characterization of O/W emulsions containing cationic droplets stabilized by lecithin-chitosan membranes.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003.

OLIVEIRA, A. **Caracterização da Distribuição do Tamanho de Gotas em Emulsões Água e Óleo Utilizando Diferentes Técnicas de Medição.** Dissertação de mestrado. Itajubá, 2010.

OLIVEIRA, A. G. **Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos.** Araraquara -SP, 2004.

OTTEWILL, R. H. **Surfactants.** Bristol, England. Cap.1, 1984.

PATIST, A.; BHAGWAT, S. S.; ,PENFIELD, K.W.; AIKENS, P.; SHAH, D.O. **On the Measurement of Critical Micelle Concentrations of Pure and Technical-Grade Nonionic Surfactants.** Florida, 1999.

PAPINI, C. J. **“Estudo Comparativo de Métodos de Determinação do Tamanho de Partículas”.** Dissertação de Mestrado. USP, São Paulo, 2003.

PARTICLE SCIENCES. **Emulsion and Emulsification.** Drug Development Services. Technical Brief, 2009.

PASQUALI, R. C.; TAUROZZI, M. P.; BREGNI, C. **Some considerations about the hydrophilic-lipophilic balance system.** The journal of pharmaceutics. v. 356, n.1 p.44-51, 2008.

PEÑA, M.R. **Physico-chemical studies of molecular interactions between non-ionic surfactants and bovine serum albumin,** Rio de Janeiro, 2009.

PRISTA, L. N, ALVES, A.C.; MORGADO, R. **Técnica Farmacêutica e Farmácia Galênica.** 2 ed, vol.II. Fundação CAIuste Gulbenkian, Lisboa. p.1650-1663, 1979.

REGO, T. V. **PRODUÇÃO DE EMULSÕES POR MEMBRANA PARA ENCAPSULAMENTO DE CURCUMINA**. Exame de qualificação, Florianópolis, 2016.

SALAGER, J. L. **Surfactants: Types and Uses**. Universidad de Los Andes. Venezuela, 2002.

SALAGER, J. L. **“Formulación, Composición, y Fabricación de Emulsiones para Obtener las Propiedades Deseadas**. Estado del Arte. Parte B”. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela, 1999.

SANTOS, F. K. G.; ALVES, J.V.A.; DANTAS, C. T. N.; NETO, A. D.; DUTRA, T.; BARROS, E. L. N. **DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MICELAR CRÍTICA DE TENSOATIVOS OBTIDOS A PARTIR DE ÓLEOS VEGETAIS PARA USO NA RECUPERAÇÃO AVANÇADA DE PETRÓLEO**. 4º PDPETRO, Campinas, SP, 2007.

SANTOS, M. S. **TEORIA DE MICELIZAÇÃO: PROPRIEDADES DE SOLUÇÕES DE SURFACTANTES VIA MINIMIZAÇÃO DA ENERGIA LIVRE DE GIBBS**. Rio de Janeiro, 2014.

SOARES, A.C.; MARQUES, R.; BRISOLARI. **Wetting of Araucaria angustifolia e Pinus elliotti samples after thermal treatment and aging**. Piracicaba, 2011.

SURN, J.; JEONG, Y. G.; VLADISAVLJEVIC, G. T. **On the preparation of lecithin stabilized oil-in-water emulsions by multi-stage premix membrane emulsification**. Journal of Food Engineering, 2008.

TADROS, T. **Emulsion Science and Technology**. Weinheim, 2009.

ZANA, R. **Mixed Surfactant Solutions** - Chapter 12, Marcel Dekker, New York, 1993.

ZANATTA, V. **USO DE MEMBRANAS CERÂMICAS MICROPOROSAS NA PRODUÇÃO DE EMULSÕES ÓLEO DE GIRASSOL EM ÁGUA**. Florianópolis, 2014



